中国生态农业学报 2017 年 9 月 第 25 卷 第 9 期
Chinese Journal of Eco-Agriculture, Sep. 2017, 25(9): 1335−1344

DOI: 10.13930/j.cnki.cjea.170156

徐富贤, 周兴兵, 蒋鹏, 张林, 熊洪, 郭晓艺, 朱永川, 刘茂. 利用杂交水稻开花比例鉴定耐高温性的方法[J]. 中国生态农业学报, 2017, 25(9): 1335−1344
Xu F X, Zhou X B, Jiang P, Zhang L, Xiong H, Guo X Y, Zhu Y C, Liu M. Identification method of high temperature resistance of hybrid rice based on flowering rate[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2017, 25(9): 1335−1344

利用杂交水稻开花比例鉴定耐高温性的方法*

徐富贤, 周兴兵, 蒋 鹏, 张 林, 熊 洪, 郭晓艺, 朱永川, 刘 茂

(四川省农业科学院水稻高粱研究所/农业部西南水稻生物学与遗传育种重点实验室 德阳 618000)

摘 要: 选用水稻开花期耐高温能力强的品种, 是缓解极端自然高温导致大幅减产的有效途径之一。为改进水稻品种耐高温性的鉴定技术, 2013 年和 2014 年以 4 个杂交水稻品种为材料, 用钵栽方法, 分别在开花前后不同时间将钵栽水稻移至人工气候室 38.0 ℃高温下处理 5 h, 以室外常温(穗层日最高气温 31.2~32.8 ℃)处理为对照, 研究极端高温时段对结实率的影响。2015 年和 2016 年以 40 个杂交中稻组合为材料进行 5 个分期播种试验, 于水稻穗层温度达 35 ℃以上时期, 从 5 个播种期中选择 20 个同期开始抽穗、生长整齐的稻穗挂牌标记, 观察不同时段开花比例, 以研究品种间开花期耐高温能力与不同时间开花比例关系。结果表明, 杂交水稻开花期高温下 11:30 前的开花比例、常温下 12:00 前开花比例分别与耐高温指数呈极显著正相关关系, 耐高温品种主要通过提高高温下的结实率而间接增强其耐高温指数, 而高温下的结实率则直接影响耐高温指数。高温下开花早的品种在常温下开花也早, 杂交水稻开花时间主要集中在 9:30—12:30, 品种间在不同时刻开花的比例各异。开花后 2 h 遇高温对结实率影响不明显; 穗层气温 34 ℃、35 ℃且频率达 80%以上的最早出现时间分别在 13:30 和 15:30, 选择日最高温度≥34 ℃或 35 ℃出现前 2 h 开花比例高的品种, 能有效地避开高温伤害。基于以上分析分别建立了利用开花期高温下 11:30 前开花比例、常温下 12:00 前开花比例和高温下结实率 3 个指标预测鉴定耐高温指数回归模型, 准确率(预测值/实测值)高达 92.29%~102.73%。为水稻品种开花期耐高温性鉴定提供了科学适用的新方法。

关键词: 杂交水稻; 高温胁迫; 开花时刻; 开花比例; 结实率; 耐高温指数; 鉴定方法
中图分类号: S511.037 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-3990(2017)09-1335-10

Identification method of high temperature resistance of hybrid rice based on flowering rate*

XU Fuxian, ZHOU Xingbing, JIANG Peng, ZHANG Lin, XIONG Hong, GUO Xiaoyi, ZHU Yongchuan, LIU Mao

(Institute of Rice and Sorghum Research, Sichuan Academy of Agricultural Sciences / Key Laboratory of Southwest Rice Biology and Genetic Breeding, Ministry of Agriculture, Deyang 618000, China)

Abstract: Using cultivars with high temperature resistance is an effectively approach to reduce yield loss induced by extreme high temperature. The objective of this study was to improve the identification method for high temperature resistance of hy-

* 国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-01-29)、国家公益性行业(农业)专项(20120302)、国家粮食丰产科技工程(2013BAD07B13-05)和四川省财政基因工程项目资助
徐富贤, 主要从事水稻生理、生态与高产高效技术研究。E-mail: xu6501@163.com
收稿日期: 2017-02-24 接受日期: 2017-05-18

* This study was supported by the China Agriculture Research System (CARS-01-29), the Special Fund for Agro-scientific Research in the Public Interest of China (20120302), the National Grain Bumper Science and Technology Project of China (2013BAD07B13-05), and the Sichuan Financial Genetic Engineering Project.
Corresponding author, XU Fuxian, E-mail: xu6501@163.com
Received Feb. 24, 2017; accepted May 18, 2017

brid rice varieties in both pot and field experiments. To that end, a pot experiment was conducted in an intelligent artificial climate chamber to determine the effects of extreme high temperature (38 ℃) on percentage grain filling at grain-filling stage in 2013 and 2014. Four cultivars were planted and exposed to extreme high temperature for 5 hours at 5.0 hours before and during flowering stage, and 1.0 hour, 1.5 hours and 2 hours after flowering stage. Also concurrently, hybrid rice cultivars were grown under normal background conditions (daily maximum temperature of panicle layer of approximately 31.2–32.8 ℃) as control (CK). A field experiment was conducted using 40 hybrid rice cultivars to study the relationship between high temperature resistance and flowering rate of hybrid rice at different times of the days based on 5 sowing dates (March 5, March 25, April 20, May 4 and May 24) in 2015–2016. In each year, 20 cultivars with same heading date were selected from 5 sowing dates to observe flowering rate at different times of the day. The results showed a significantly positive linear correlation between high temperature resistance index and flowering rate of hybrid rice before 11:30 AM under high temperature condition or before 12:00 noon under normal temperature condition. The increase in seed setting rate of high temperature resistant variety under high temperature condition was indirectly related with high temperature resistance index, while its' seed setting rate under high temperature condition was directly related with high temperature resistance index. Flowering of hybrid rice occurred earlier under high temperature condition, the cultivar flowering was also earlier under normal temperature condition. Flowering of hybrid rice was mainly concentrated around 9:30 AM to 12:30 PM. However, flowering rate differed with cultivar at different times of the day. Seed setting rate was not significantly affected by high temperature after 2 hours of flowering. When panicle layer temperature was 34 ℃ and 35 ℃, and their frequency reached 80% at 13:30 PM and at 15:30 PM, respectively, choosing cultivars that flowered 2 hours before high temperature (daily maximum temperature greater than 34 ℃ or at about 35 ℃) could effectively resist high temperature injury. Regression equation was established based on flowering rate before 11:30 AM under high temperature and before 12:00 noon under normal temperature condition and seed setting rate under high temperature condition. The equation provided a new identification method of high temperature resistance of hybrid rice cultivars at flowering stage at a percent accuracy (estimated value / measured value) of up to 92.29%–102.73%.

Keywords: Hybrid rice; High temperature stress; Flowering time; Flowering ratio; Seed setting rate; High temperature resistance index; Identification method

如何解决水稻开花期的极端高温导致结实率大幅度降低而减产，已成为一个全球性难题[1-2]。我国长江流域是高温危害重灾区，尤其对杂交水稻影响更为严重，已引起国家有关部门的高度重视。为此国内外就水稻品种开花期耐高温机理及缓解高温胁迫技术进行了广泛研究[1-17]，并将耐高温品种选择作为抵御高温危害的重要措施[7-12]。但耐高温品种的鉴定方法是一个薄弱环节[1]，目前常用的人工气候室法或自然高温鉴定法，因受条件所限难以普遍应用；虽然较多学者通过研究高温胁迫下水稻品种间可溶性糖、可溶性蛋白、游离脯氨酸、热稳定蛋白、膜透性、MDA 含量、关键酶 Rubisco、活化酶 RuBP、花粉的活力、萌发率等生理生化指标的响应[6,10-11,13-17]，为破解水稻品种间耐高温差异的机理方面有一定进展，但要将其研究成果应用于耐高温品种的鉴定上尚有较大差距。因此作者在先期已明确花时早而集中的杂交组合开花期耐高温能力强[7]的基础上，试图进一步探索杂交水稻品种间不同时点开花比例与耐高温性的定量关系，以期为水稻开花期耐高温品种的鉴定提供一种简便、适用的科学方法。

1　材料与方法

试验在四川省农业科学院水稻高粱研究所泸县实验基地的冬水田及智能人工气候室进行，田间试验土壤质地均匀，中上等肥力。试验点所在地泸县为典型的高温伏旱区，常年≥10 ℃有效积温 5 500 ℃，年均气温 18~18.6 ℃，大面积杂交中稻抽穗到成熟期间平均日最高气温 31.9~32.6 ℃，平均日最低气温 22.5~23.6 ℃，其中开花期常遇 35 ℃以上的高温伤害。

1.1　高温日穗层气温动态变化与极端高温时段对结实率影响试验

试验在温度精确度±0.5 ℃的智能人工气候室(北京易盛泰和科技有限公司制)进行。采用钵栽试验，取稻田干土(pH 6.62，有机质 22.34 g·kg^{-1}，全氮 1.58 g·kg^{-1}，全磷 0.74 g·kg^{-1}，全钾 11.54 g·kg^{-1}，有效氮 147.6 mg·kg^{-1}，有效磷 85.4 mg·kg^{-1}，有效钾 163.1 mg·kg^{-1})，经晒场整细混均后将 4 kg 土装入塑料钵内(钵为长方体，高 33 cm、长 30 cm、宽 20 cm)。2013 年、2014 年以 4 个杂交中稻组合为供试材料，分别为‘Q 优 1 号’、‘川谷优 7329’、‘蓉优 908’和‘花香 7 号’。

3 月 7 日播种，地膜培育中苗秧，4.5 叶移栽至钵盆。氮按每钵 1.5 g 施用，其中底肥 50%、蘖肥 20%、穗肥 30%，磷、钾肥按 N∶P_2O_5∶K_2O=1∶0.5∶1.0 比例作底肥一次性施入。各品种栽 13~15 钵，每钵栽 3 穴，每穴栽双株。抽穗期于高温处理前 1 天 17:00 时，选择次日将开花的稻穗一段，将两头挂吊牌标记(剪去已开颖花)，分别于次日开花前 5 h(6:00)、开花当时(11:00 左右，据多年观察多数品种集中 11:00 时前后大量开花)、开花后 1 h(12:00)、开花后 1.5 h(12:30)、开花后 2 h(13:00)进行高温处理。高温处理前 10 min，将前日两头挂吊牌段以内未开的少数颖花剪掉，标记 1 320~1 680 朵颖花，6 次重复。将其中 3 个重复的盆钵移至人工气候室高温处理 5 h(相对湿度 85%，温度为 38.0 ℃)，另 3 个重复放在室外常温下(穗层日最高气温 31.2~32.8 ℃)，高温处理期间保持盆钵内浅水层。高温处理结束后将盆钵移至室外管理。于成熟期分别收获，考查各处理两头挂吊牌段以内籽粒的结实率和耐高温指数(耐高温指数=高温处理下结实率/常温处理下结实率，后同)。

2013 年、2014 年、2015 年、2016 年，在泸县实验基地本试验田，于水稻抽穗期间，用竹杆将水银温度计吊挂于田间穗层高度，观测日最高气温，当出现有 35 ℃以上高温日时，再结合天气预报，若以后几天将是晴天，则把第 2 d 作为高温稳定期。分别于 35 ℃以上高温日稳定期，连续观测 7:30 至 15:30 时的穗层温度(取全田 3 个观测点平均值)，每小时记录 1 次。

1.2　自然高温对结实率影响与品种间开花习性关系试验

2013—2016 年试验自然高温处理从分期播种中选择水稻开花期穗层日最高气温为 35~37.7 ℃。

2015 年、2016 年均以通过审定的 40 个杂交中稻组合为材料进行分期播种试验。两年均分别于 3 月 5 日、3 月 25 日、4 月 20 日、5 月 4 日、5 月 24 日播种(目的为终有一个播期的杂交组合在抽穗期能遇自然高温)，地膜湿润育秧，4.5 叶移栽，大田按 30 cm×20 cm 规格每穴栽双株，本田施氮 150 $kg\cdot hm^{-2}$(底肥∶蘖肥∶穗肥=5∶3∶2)，磷、钾肥按 N∶P_2O_5∶K_2O=1∶0.5∶0.8 作底肥一次施用。每期各杂交组合移栽 120 穴，重复 3 次，裂区设计；以播期为主区，杂交组合为副区。

2015 年、2016 年分别观察到对水稻开花受精具有明显伤害的高温(日最高温度达 35 ℃)[2]稳定期在 7 月 15 日和 7 月 28 日。此高温期间由于在 5 个播种期中，只有 2015 年 3 月 25 日播种、2016 年 4 月 20 日播种的绝大多数杂交组合正处于抽穗期。因此，分别选从 2015 年 3 月 25 日和 2016 年 4 月 20 日播种的 40 个杂交组合中选择 20 个同期抽穗、生长整齐的稻穗挂牌标记，每个杂交组合每次重复挂牌标记 6~8 穗，重复 3 次。虽然两年的 40 个试验品种完全相同，但各品种年度间生育期表现不完全一致，两年试验选择同时遇高温的 20 个组合中只有 14 个组合相同。于高温期间，连续 4 d 分别统计 11:00 以前、11:00—11:30、11:30—12:00 的开花数(以剪颖花一微小角作为已开花记号)。成熟期将 3 月 5 日播种(常温下抽穗)与高温日挂牌标记相同的 20 个组合，各取样 5 穴，3 次重复，从高温日播种期中选定的 20 个组合挂牌标记定穗的穗子全部取样，考查穗部性状，并计算各杂交组合抽穗期的耐高温指数。

以上试验数据的方差、相关及回归分析由 DPS 数据处理系统和 Microsoft Excel 操作系统完成。

2　结果与分析

2.1　杂交水稻品种间开花动态与耐高温性的关系

从试验结果(表 1)可见，不同杂交水稻品种之间在常温和高温下开花的结实率及耐高温指数均达显著或极显著差异(方差分析 F 值为 4.23^{*}~10.54^{**})，耐高温指数与高温下结实率呈极显著正相关(r 值为 $0.960\ 5^{**}$~$0.984\ 1^{**}$)；耐高温指数达 0.8 以上的品种有‘旌优 127’、‘Q 优 1 号’、‘川农优华占’。

无论高温还是常温下杂交品种间各时段开花比例均达显著或极显著差异(F=3.56^{*}~6.01^{**})，高温下 11:30 前和 12:00 前、常温下 12:00 前开花比例，分别与耐高温指数呈显著或极显著正相关(r 值为 $0.487\ 6^{**}$~$0.732\ 2^{**}$)(表 2)。表 1、表 2 数据的回归分析结果表明，高温下 11:30 前开花比例(X_2)和常温下 12:00 前开花比例(X_6)对耐高温指数有极显著影响(表 3)。以上两年结果趋势一致。

2.2　杂交水稻品种间开花动态影响耐高温性的原因

试验结果(表 4)表明，开花前 5 h 高温对结实没有显著影响，受高温伤害的敏感期在开花当时，对受精影响最大，造成结实率显著下降。开花后不同时间的高温对结实率的影响品种间表现各异。参试 4 个品种中，开花后 1 h 的高温处理下仅‘Q 优 1 号’结实未受显著影响，开花后 1.5 h 的高温处理下有‘Q

表 1 杂交水稻品种在不同温度下开花的结实率与耐高温指数表现

Table 1 Seed setting rates at different temperatures and high temperature resistance indexes of different hybrid combinations

杂交组合 Hybrid combination	2016			杂交组合 Hybrid combination	2015		
	常温结实率 SSRNT (%)	高温结实率 SSRHT (%)	耐高温指数 HTRI		常温结实率 SSRNT (%)	高温结实率 SSRHT (%)	耐高温指数 HTRI
旌优 127 Jingyou 127	85.30±0.46abcd	73.05±3.21a	0.856±0.113a	旌优 127 Jingyou 127	83.90±0.88abcdef	68.83±2.76bc	0.820±0.077ab
Q 优 1 号 Qyou 1	87.75±1.82a	73.17±2.08a	0.834±0.098ab	Q 优 1 号 Qyou 1	86.55±2.06abc	76.50±1.89a	0.884±0.032a
川优 6203 Chuanyou 6203	84.84±2.33abcd	60.32±2.76bc	0.711±0.106cdfg	川优 6203 Chuanyou 6203	87.60±1.75ab	63.12±1.88cdef	0.721±0.066bcde
川农优华占 Chuannongyouhuazhan	79.84±0.82ef	64.37±3.63b	0.806±0.085abc	川农优华占 Chuannongyou-huazhan	81.90±0.83cdefg	70.29±0.79b	0.858±0.105a
蓉优 918 Rongyou 918	83.53±0.53bcde	58.82±2.54cd	0.704±0.091dfg	蓉优 918 Rongyou 918	81.80±0.41cdefg	55.92±2.02ghijk	0.684±0.084ef
蓉优 22 Rongyou 22	86.58±2.01ab	56.47 ±1.97cde	0.652±0.041fgh	蓉优 22 Rongyou 22	85.54±0.70abcd	60.01±1.92defghi	0.702±0.048def
内 5 优 H25 Nei5you H25	81.31±0.64def	49.09 ±0.86fgh	0.604±0.076hi	内 5 优 H25 Nei5you H25	87.90±1.48 a	55.68±2.35gijk	0.633±0.097efg
宜香 2115 Yixiang 2115	82.16±1.20cde	52.11±2.66 efg	0.634±0.103ghi	宜香 2115 Yixiang 2115	81.03±1.27defg	50.06±0.96kl	0.618±0.063fgh
川谷优 918 Chuanguyou 918	81.79 ±0.79cde	48.48±2.30gh	0.593±0.082hij	川谷优 918 Chuanguyou 918	79.00±0.77fgh	45.81±0.811	0.580±0.090ghi
花香 7 号 Huaxiang 7	82.71±1.05bcde	45.45±3.29hi	0.550±0.073ijk	花香 7 号 Huaxiang 7	87.74±2.79a	46.19±1.78ll	0.526±0.072hij
川谷优 7329 Chuanguyou 7329	85.74±0.93abc	54.34±0.84def	0.634±0.061ghi	川谷优 7329 Chuanguyou 7329	83.38±0.98abcdef	57.13±2.04fghij	0.685±.091ef
川谷优 6684 Chuanguyou 6684	86.68±0.48ab	57.12±2.47cd	0.659±0.088fgh	川谷优 6684 Chuanguyou 6684	83.74±0.77abcdef	60.31±1.63defgh	0.720±0.078cde
内 5 优 828 Nei5you 828	82.21 ±1.84cde	52.02±0.78efg	0.633±0.048ghi	内 5 优 828 Nei5you 828	80.12±0.74efgh	54.28±0.41ijk	0.677±0.087efg
奇优 894 Qiyou 894	86.64±1.50ab	54.47±0.91def	0.629±0.044ghi	奇优 894 Qiyou 894	82.30±0.58cdefg	52.96±0.53jk	0.644±0.040efg
宜香 4245 Yixiang 4245	82.32±1.72bcde	41.41±0.68ij	0.503±0.070jk	川香 37 Chuanxiang 37	85.01±1.93abcde	59.91±2.21efghi	0.705±0.069def
渝优 7109 Yuyou 7109	83.09±0.98bcde	39.03±2.96j	0.470±0.085k	蓉优 9 号 Rongyou 9	85.82±1.60abcd	54.37±1.92 hijk	0.634±0.008efg
德香 4727 Dexiang 4727	77.58±1.04fg	61.40±0.93bc	0.791±0.101abcd	川谷优 23 Chuanguyou 23	82.68±0.82bcdef	65.23±2.64bce	0.789±0.031abcd
宜香 2084 Yixiang 2084	82.49±0.58bcde	60.58±1.42bc	0.734±0.039bcdf	汕优联合 2 号 Shanyoulianhe 2	81.72±0.99cdefg	50.60±0.88 kl	0.619±0.026fgh
泸优 727 Luyou 727	73.54± 1.46g	49.01±1.18fgh	0.666±0.063fgh	蓉优 908 Rongyou 908	75.62±1.14h	34.09±3.07m	0.451±0.070j
两优 585 Liangyou 585	88.14±2.26a	57.74±0.83cd	0.655±0.009fgh	键优 388 Jianyou 388	77.58±1.47gh	39.46±0.73m	0.509±0.108ij
F 值 *F* value	5.19^{**}	4.23^{*}	10.54^{**}	*F* 值 *F* value	3.84^{*}	8.62^{**}	5.96^{**}
与耐高温指数间 *r* *r* with HTRI	0.028 2	$0.960\ 5^{**}$		与耐高温指数间 *r* *r* with HTRI	0.413 8	$0.984\ 1^{**}$	

SSRNT: seed setting rate at normal temperature; SSRHT: seed setting rate at high temperature; HTRI: high temperature resistance index

优 1 号'和'川谷优 7329'2 个品种结实未受影响，而开花后 2 h 的高温处理下 4 个品种结实均未受影响。2013—2016 年水稻开花期共 16 个 35 ℃高温日各时点穗层温度和发生频率如图 1、图 2 所示。从图 1 可见，从 7:30—15:30 时，气温呈上升趋势，而且气温分别高于 33 ℃、34 ℃和 35 ℃的频率达 80%以上，最早出现的时间分别在 11:30、13:30 和 15:30(图 2)。而杂交水稻开花时间主要在 9:30—12:30，不同水稻品种间在不同时刻开花的比例各不相同。目前较为一致研究认为，日均温 30 ℃或日最高温度≥35 ℃是水稻开花期受高温伤害的临界温度[1-2]。因此，在选择日最高温度≥34 ℃或 35 ℃出现前 2 h 开花比例高的品种，能有效地避开高温伤害。

由于高温下开花早的品种在常温下开花也早(图 3)，因此高温下 11:30 前和常温下 12:00 前开花比例高的品种，其耐高温指数较高。

2.3 利用开花比例预测杂交水稻耐高温性的准确率分析

为了建立水稻品种耐高温性的间接鉴定方法，以 2015 年、2016 两年试验数据平均值，进行对品种间

表 2 杂交水稻品种高温和常温下各时段开花比例

Table 2 Proportions of blossom at different times of different hybrid combinations of rice at high and normal temperatures

年度 Year	项目 Item	常温下开花比例 PBNT			高温下开花比例 PBHT		
		11:00 前 Before 11:00 (X_1)	11:30 前 Before 11:30 (X_2)	12:00 前 Before 12:00 (X_3)	11:00 前 Before 11:00 (X_4)	11:30 前 Before 11:30 (X_5)	12:00 前 Before 12:00 (X_6)
2016	最小值 Min. (%)	10.92	57.21	87.89	8.27	35.34	77.70
	最大值 Max. (%)	51.57	90.80	99.68	36.10	76.28	96.28
	平均值 Mean (%)	26.94	73.17	95.86	22.85	64.44	85.32
	变异系数 CV (%)	40.63	15.01	3.65	31.65	15.02	5.84
	F 值 *F* value	3.77*	3.78*	4.23*	4.51*	4.08*	6.01**
	与耐高温指数间 *r* *r* with HTRI	−0.137 6	0.770 7**	0.052 7	−0.095 2	0.349 8	0.851 8**
2015	最小值 Min. (%)	11.23	50.63	86.62	4.95	40.23	60.50
	最大值 Max. (%)	39.67	91.64	99.23	24.53	77.51	88.35
	平均值 Mean (%)	22.38	69.74	91.55	12.09	56.40	77.99
	变异系数 CV (%)	35.23	17.43	3.56	37.11	17.60	9.29
	F 值 *F* value	3.56*	4.32*	4.47*	3.95*	5.45**	4.95**
	与耐高温指数间 *r* *r* with HTRI	0.384 5	0.711 9**	0.487 6*	0.405 4	0.290 4	0.732 2**

PBNT: proportion of blossom at normal temperature; PBHT: proportion of blossom at high temperature; HTRI: high temperature resistance index.

表 3 耐高温指数(*Y*)与高温和常温下杂交水稻品种各时段开花比例(*X*)的多元回归分析

Table 3 Multiple regression analysis between high temperature resistance index (*Y*) and the proportion of blossom at high or normal temperatures (*X*)

年度 Year	回归方程 Regression equation	*F* 值 *F* value	R^2	偏相关系数 Partial correlation coefficient	*t* 检验值 *t*-test value	显著水平 Significance level
2016	Y=−0.641 1+0.004 1X_2−0.002 3X_4+0.012 4X_6	35.08**	0.868 0	$r(Y, X_2)$=0.701 0	3.932 0**	0.001 1
				$r(Y, X_4)$=−0.409 9	1.797 5	0.090 0
				$r(Y, X_6)$=0.803 4	5.396 5**	0.000 1
2015	Y=−0.123 7+0.005 1X_2−0.003 1X_5+0.007 9X_6	11.91**	0.690 8	$r(Y, X_2)$=0.573 3	2.798 9**	0.012 3
				$r(Y, X_5)$=−0.370 9	1.597 3	0.128 6
				$r(Y, X_6)$=−0.579 9	2.846 9**	0.011 2

表 4 不同开花时段高温处理对杂交水稻结实率的影响

Table 4 Effect of high temperature at different blossoming times on seed setting rates of hybrid combinations of rice

年度 Year	杂交组合 Hybrid combination	高温处理 5 h 结实率 Seed setting rate at high temperature for 5 hours (%)					常温下结实率 Seed setting rate at normal temperature (%)	*F* 值 *F* value
		开花前 5 h 5 hours before blossoming	开花当时 At blossoming	开花后 1 h 1 hour after blossoming	开花后 1.5 h 1.5 hours after blossoming	开花后 2 h 2 hours after blossoming		
2014	Q 优 1 号 Qyou 1	94.74±2.07a	62.51±0.82a	94.57±1.97a	95.32±0.84a	96.08±1.18a	97.53±0.47a	10.08**
	川谷优 7329 Chuanguyou 7329	94.20±1.96a	43.62±0.77c	78.61±1.04b	92.33±1.13a	92.93±0.72a	94.11±1.63a	4.38*
	蓉优 908 Rongyou 908	92.44±1.88a	21.95±0.32d	58.76±0.92c	79.54±0.96b	92.23±0.69a	95.50±0.69a	6.62**
	花香 7 号 Huaxiang 7	91.77±0.94a	26.65±0.28d	64.72±2.33c	83.96±1.42b	92.04±1.35a	95.46±1.44a	4.91*
2013	Q 优 1 号 Qyou 1	96.32±1.79a	59.73±0.54b	97.30±1.02a	96.42±1.01a	97.08±1.49a	98.71±2.12a	7.10**
	川谷优 7329 Chuanguyou 7329	93.89±0.93a	38.56±0.91c	82.05±1.66b	94.29±1.56a	93.94±2.67a	94.80±1.04a	5.23*
	蓉优 908 Rongyou 908	94.27±1.50a	25.35±0.53d	65.33±0.98c	78.91±0.73b	94.08±0.54a	95.13±0.90a	3.85*
	花香 7 号 Huaxiang 7	93.32±1.22a	19.40±2.67d	59.47±1.86c	84.61±0.99b	94.49±2.01a	94.29±0.53a	4.10*

同行数据后不同字母表示各高温处理时段差异显著(P<0.05)。Values within the same line followed by different letters are significantly different at 0.05 probability level.

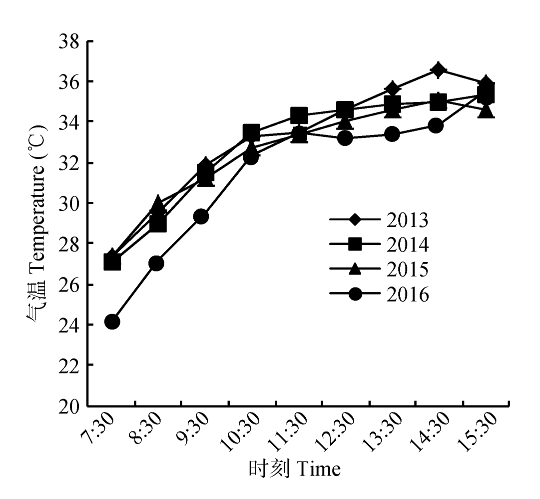


图 1 杂交水稻开花期连续 4 d 高温日穗层平均气温动态
Fig. 1 Dynamics of mean temperature at panicle layers of 4 days with high temperature at blossoming stage of hybrid rice

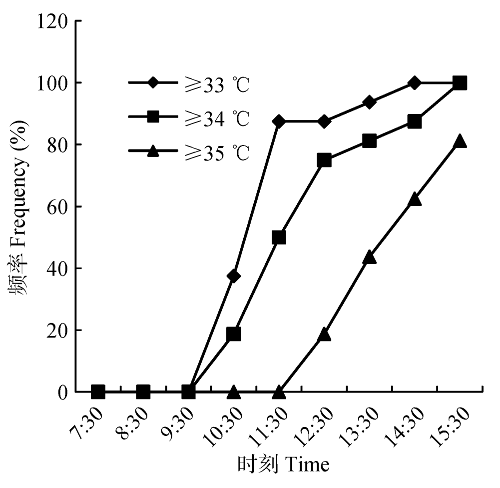
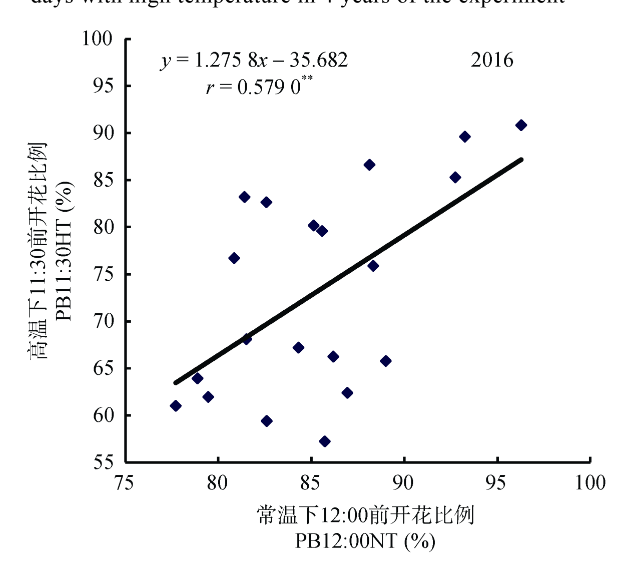


图 2 4 年试验期间 16 个高温日各时点高温出现频率
Fig. 2 Frequency of high temperature at different times for 16 days with high temperature in 4 years of the experiment

耐高温指数有较大影响的高温下 11:30 前开花比例、常温下 12:00 前开花比例和高温下结实率 3 因素与耐高温指数的回归分析，回归方程决定系数达 71.46%~95.49%，相关系数达极显著水平(r 值为 0.845 3**~0.977 2**)。利用试验测定值与预测值之间的均方差根(RMSE)对模型进行检验[18]，RMSE 为 0.41%~1.12%，测定数据与预测值之间表现较好一致性(表 5)。因此可用这些回归方程作为评价耐高温指数的间接指标。

为了进一步验证以上回归方程应用的可靠性，特以两年在高温处理下相同的 14 个品种的 2015 年实测的高温下 11:30 前开花比例、常温下 12:00 前开花比例、高温下结实率数据，分别预测其耐高温指数，再分别将其预测值与 2016 年该 14 个品种实测的耐高温指数之间进行均方差根(RMSE)检验，RMSE 为 0.79%~2.10%，准确率(预测值/实测值)高达 92.29%~102.73%(表 6)。

从水稻开花期耐高温指数(y)与高温下 11:30 前开花比例(x_1)、常温下 12:00 开花比例(x_2)和高温下结实率(x_3)的多元回归分析结果(表 7)可见，仅有高温下结实率(x_3)的偏相关系数达极显著水平，而高温下 11:30 前开花比例(x_1)、常温下 12:00 前开花比例(x_2)的偏相关系数则不显著。究其原因，虽然高温下 11:30 前开花比例(x_1)、常温下 12:00 前开花比例(x_2)分别与耐高温指数(y)相关极显著，但主要通过高温下结实率(x_3)间接影响耐高温指数(y)，其直接作用甚微；而高温下结实率(x_3)对耐高温指数(y)直接作用极大(表 8)。



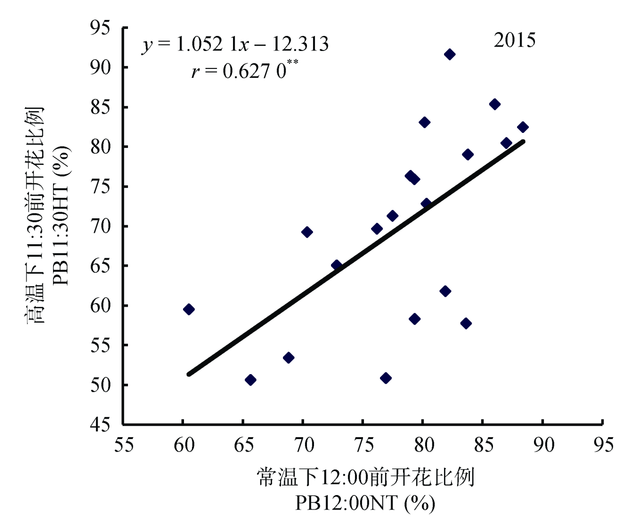


图 3 不同杂交水稻组合高温下 11:30 前开花比例与常温下 12:00 前开花比例的关系
Fig. 3 Relationship between the proportion of blossom before 11:30 during high temperature stage (PB11:30HT) and those before 12:00 during normal temperature stage (PB12:00NT) for different hybrid combinations of rice

表 5　耐高温指数(*y*)与不同温度下开花比例及高温下结实率(*x*)的回归分析(两年平均)

Table 5　Regression analysis between high temperature resistance index at heading stage (*y*) and the proportion of blossom at different temperatures and seed setting rate in high temperature (*x*)

x	回归方程	R^2	*r*	*n*	RMSE (%)
高温下 11:30 前开花比例 PB11:30HT (%)	y=0.052 7+0.008 6x	0.714 6	0.845 3**	20	1.12
常温下 12:00 前开花比例 PB12:00NT (%)	y=−0.947 9+0.019 8x	0.795 9	0.892 1**	20	0.41
高温下结实率 SSRHT (%)	y=0.060 7+0.010 9x	0.954 9	0.977 2**	20	0.65

PB11:30HT: proportion of blossom before 11:30 during high temperature stage; PB12:00NT: proportion of blossom before 12:00 during normal temperature stage; SSRHT: seed setting rate at high temperature.

表 6　2015 年耐高温指数预测值与 2016 年相同品种实测值的比较

Table 6　Comparison between calculated values in 2015 and observed values in 2016 of high temperature resistance indexes of 14 hybrid combinations of rice

杂交组合 Hybrid combination	2015 年耐高温指数预测值 CIHTR2015			2016 年耐高温指数实测值 OVHTR2016
	基于高温下 11:30 前开花比例 CPB 11:30HT	基于常温下 12:00 前开花比例 CPB12:00NT	基于高温下结实率预测 CSSRHT	
旌优 127 Jingyou 127	0.767 0	0.639 7	0.810 9	0.856 4
Q 优 1 号 Qyou 1	0.840 8	0.681 0	0.894 6	0.833 8
川优 6203 Chuanyou 6203	0.761 9	0.801 4	0.748 7	0.711 0
川农优华占 Chuannongyouhuazhan	0.786 9	0.755 3	0.826 9	0.806 2
蓉优 918 Rongyou 918	0.732 5	0.710 7	0.670 2	0.704 2
蓉优 22 Rongyou 22	0.705 5	0.622 2	0.714 8	0.652 2
内 5 优 H25 Nei5you H25	0.584 2	0.673 7	0.667 6	0.603 7
宜香 2115 Yixiang 2115	0.549 6	0.707 6	0.606 4	0.634 3
川谷优 918 Chuanguyou 918	0.488 1	0.352 2	0.560 0	0.592 7
花香 7 号 Huaxiang 7	0.512 3	0.414 7	0.564 2	0.549 5
川谷优 7329 Chuanguyou 7329	0.679 0	0.642 6	0.683 4	0.633 8
川谷优 6684 Chuanguyou 6684	0.709 3	0.616 1	0.718 1	0.659 0
内 5 优 828 Nei5you 828	0.651 9	0.561 1	0.652 4	0.632 7
奇优 894 Qiyou 894	0.665 9	0.586 6	0.638 0	0.628 7
平均值 Mean	0.652 5	0.626 1	0.696 9	0.678 4
预测值/实测值 Calculated value/observed value	0.961 8	0.922 9	1.027 3	
RMSE (%)	1.01	2.10	0.79	

CIHTR2015: calculated value of high temperature resistance index in 2015; OVHTR2016: observed values of high temperature resistance index in 2016; CPB11:30HT: calculating with the proportion of blossom before 11:30 during high temperature stage; CPB12:00NT: calculating with the proportion of blossom before 12:00 during normal temperature stage; CSSRHT: calculating with seed setting rate at high temperature.

表 7　水稻开花期耐高温指数(*y*)与不同温度下开花比例及高温下结实率(*x*)的多元回归分析

Table 7　Multiple regression analysis between high temperature resistance index at heading stage (*y*) and the proportions of blossom under different temperatures and seed setting rate of rice at high temperature (*x*)

回归方程 Regression equation	R^2	F 值 F value	偏相关系数 Partial correlation coefficient	t 值 t-value	显著水平 Significant level
$y=0.055\ 7+0.000\ 30x_1+0.000\ 07x_2+0.010\ 52x_3$	0.947 9	218.15**	$r(y, x_1)=0.096\ 5$	0.581 9	0.564 2
			$r(y, x_2)=0.015\ 2$	0.091 4	0.927 7
			$r(y, x_3)=0.933\ 1$	15.57 4	0.000 0

x_1：高温下 11:30 前开花比例；x_2：常温下 12:00 前开花比例；x_3：高温下结实率。x_1: proportion of blossom before 11:30 during high temperature stage; x_2: proportion of blossom before 12:00 during normal temperature stage; x_3: seed setting rate at high temperature.

表 8　不同温度下水稻开花比例及高温下结实率(x)对耐高温指数(y)的通径分析
Table 8　Path analysis of the proportions of blossom under different temperatures and seed setting rate of rice at high temperature (x) to high temperature resistance index at heading stage (y)

因子 Trait	r	直接作用 Direct effect	间接作用 Indirect effect			
			总和 Total	→x_1	→x_2	→x_3
x_1	0.724 8**	0.033 09	0.691 7		0.002 8	0.689 0
x_2	0.642 2**	0.004 71	0.637 4	0.019 5		0.618 0
x_3	0.973 3**	0.946 12	0.027 2	0.024 1	0.003 1	

*R^2=0.947 9, n=40. x_1: 高温下 11:30 前开花比例; x_2: 常温下 12:00 前开花比例; x_3: 高温下结实率. x_1: proportion of blossom before 11:30 during high temperature stage; x_2: proportion of blossom before 12:00 during normal temperature stage; x_3: seed setting rate at high temperature.

3　讨论

3.1　关于开花期不同时点高温对结实率的影响

本研究表明，开花前 5 h 的高温对结实率影响不显著、开花当时高温处理结实率显著降低，与前人研究结论基本一致[2,19-20]。Satake 等[19]发现，高温对已经开过的颖花和高温处理 1 h 后开放的颖花几乎不产生影响。朱兴明等[20]研究则认为，花后 1 h 的自然高温对结实率无明显影响；而谭中和等[2]在人工气候箱控温条件下的研究结果指出，在开花后 4 h 的高温对受精仍有较大影响。本研究则指出，花后不同时间的高温对结实率的影响因品种而异，参试 4 个品种中，于花后 1 h、1.5 h 和 2 h 分别进行高温处理 5 h(相对湿度 85%，温度为 38.0 ℃)条件下，分别有 3 个、2 个和 0 个品种对结实率有显著影响，较为一致的是开花后 2 h 的高温处理对结实无明显影响。与前人研究结论有一定差异，可能与试验采用品种和温度、湿度条件不同有关。

根据本研究结果，杂交水稻开花时间主要在 9:30—12:30，不同品种间在不同时刻开花的比例各不相同，气温越高花时越早，杂交水稻在自然高温下因花时早于日最高温发生前，受高温伤害较小。穗层气温高于 34 ℃以上频率超过 80%的最早出现的时间在 13:30 时。日均温 30 ℃或最高温度≥35 ℃是水稻开花期受高温伤害的临界温度，但品种间存在一定差异[1-2]。因此，为了提高开花期结实不受高温影响的安全保证率，选择日最高温度≥34 ℃出现前 2 h 即 11:30 前开花比例高的品种，能有效地避开高温伤害。

3.2　关于水稻开花期耐高温杂交品种的鉴定指标

影响水稻开花期与耐高温性有关的生理生化指标较多。花药内酸性蔗糖酶活性低，花粉粒内单糖含量少的品种耐高温能力差[1]。剑叶的光合特性及叶绿素含量、可溶性糖、可溶性蛋白、游离脯氨酸和热稳定蛋白含量高，膜透性和 MDA 含量低的品种耐高温能力强[13]。高温胁迫下光合作用的关键酶活性、光合速率高[6,14]、花粉活力、花粉萌发率高[15-16,21]、柱头上授粉数多[22]的品种耐高温能力强。利用这些研究结论指导研发缓解开花期高温对结实率伤害的物化产品具有重要作用，但利用这些生理生化指标在高温胁迫下鉴定耐高温品种则需要通过实验室测试分析，不仅存在时效性上滞后，而且其准确性也不会很高。

结实率是对高温反应最好的直接指标，而且方便可靠感观度极强。目前多采用耐高温指数=高温下结实率/常温下结实率×100%作为品种间耐高温性的筛选指标[1,4,7]，但获得耐高温指数的两个措施即人工气候箱(室)鉴定法和自然高温鉴定法均有一定局限性。人工气候箱(室)鉴定将鉴定品种通过盆栽，于水稻开花期将每个品种分为两部分，一部分放在人工气候箱(室)进行高温处理，另一部分在室外常温下开花，成熟期分别考查结实率以计算耐高温指数。主要问题：一是需要人工气候箱(室)，较多单位没有此条件；二是在室外常温下开花处理常遇自然高温，以致鉴定工作失败。自然高温鉴定法将拟鉴定品种分为 3~5 期播种，期望其中有一期开花期遇到高温，另有一期在常温下开花，成熟期分别考查结实率并计算耐高温指数。主要问题：一是只能在有高温发生的地区鉴定，受地域限制；二是既使在高温地区，有的年份没有高温出现或所播的期数较少而开花期错开了高温发生期，最终鉴定工作失败；三是需要播种 3~5 期的工作量较大。因此有必要开展更高效、适用的耐高温品种的鉴定方法。

3.3　利用开花比例鉴定耐高温特性的优势与应用方法

与现有水稻品种耐高温特性的鉴定方法相比，利用开花比例的鉴定方法的优势在于，开花期在高温或常温下均可鉴定，只需种植一期，不仅鉴定成本比传统分期播种法低，还可鉴定大批量品种。因为水稻每日开花时刻的早迟与当日气温有关，温度

越高开花时间越早，即在常温下开花早的品种，在高温下开花更早。所以，本方法不但不存在不能遇自然高温而造成鉴定工作失败的问题，而且非高温地区也能鉴定。具体鉴定方法如下:

首先将拟鉴定的杂交水稻品种按播种—抽穗期相差 3 d 以内的分为一类，每类品种按当地常规高产栽培技术种植，每个品种栽 3~5 行，每行栽 10 穴。然后选择同期开始抽穗、生长整齐的稻穗挂牌标记，每个品种每次重复挂牌标记 6~8 穗，重复 3 次，并连续 4 d 天分别统计各品种上午 11:30(遇高温)或 12:00(未遇高温)以前的开花数。最后将每个品种挂牌标记的稻穗取回室内考查平均每穗的颖花数，并分别统计各品种上午 11:30 时或 12:00 时以前的开花数占每穗的颖花数的比例，再通过对开花比例的方差分析结果以确定品种间耐高温性的差异。

4 结论

杂交水稻花期高温下 11:30 前的开花比例、常温下 12:00 前开花比例分别与耐高温指数呈极显著正相关。开花后 2 h 的遇高温对结实率影响不明显，穗层气温 34 ℃、35 ℃以上且频率达 80%以上的最早出现时间分别在 13:30 和 15:30，分别建立了利用开花期高温下 11:30 前开花比例、常温下 12:00 前开花比例和高温下结实率 3 个指标预测鉴定耐高温指数回归模型。

参考文献 References

[1] 田小海, 松井勤, 李守华, 等. 水稻花期高温胁迫研究进展与展望[J]. 应用生态学报, 2007, 18(11): 2632–2636
Tian X H, Mastsui T, Li S H, et al. High temperature stress on rice anthesis: Research progress and prospects[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2007, 18(11): 2632–2636

[2] 谭中和, 蓝泰源, 任昌福, 等. 杂交籼稻开花期高温危害及其对策的研究[J]. 作物学报, 1985, 11(2): 103–108
Tan Z H, Lan T Y, Ren C F, et al. Studies on high temperature injury on hybrid rice at flowering time and the strategy to avoid high temperature damage[J]. Acta Agronomica Sinica, 1985, 11(2): 103–108

[3] 李飞, 卓壮, Udawela U A K S, 等. 水稻高温热害发生机理与耐高温遗传基础研究[J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(1): 97–103
Li F, Zhuo Z, Udawela U A K S, et al. Damage mechanism of heat stress and genetic basis of heat tolerance in rice[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2013, 14(1): 97–103

[4] 王志刚, 王磊, 林海, 等. 水稻高温热害及耐热性研究进展[J]. 中国稻米, 2013, 19(1): 27–31
Wang Z G, Wang L, Lin H, et al. Research progress on rice heat damage and heat resistance of high temperature[J]. China Rice, 2013, 19(1): 27–31

[5] 高伟, 徐延浩, 吴晨阳, 等. 水稻生殖生长期的高温危害与表观遗传[J]. 长江大学学报: 自然科学版, 2013, 10(11): 1–5
Gao W, Xu Y H, Wu C Y, et al. High temperature harm and epigenetic at rice reproductive growth stage[J]. Journal of Yangtze University: Natural Science Edition, 2013, 10(11): 1–5

[6] 任昌福, 陈安和, 刘保国. 高温影响杂交水稻开花结实的生理生化基础[J]. 西南农业大学学报, 1990, 12(5): 440–443
Ren C F, Chen A H, Liu B G. The effect of high temperature on the physiology and biochemical foundation of flowering and fertilization of hybrid rice[J]. Journal of Southwest Agricultural University, 1990, 12(5): 440–443

[7] 徐富贤, 张林, 熊洪, 等. 杂交中稻开花期高温对结实率影响及其与组合间库源结构和开花习性的关系[J]. 作物学报, 2015, 41(6): 946–955
Xu F X, Zhang L, Xiong H, et al. Effects of high temperature during flowering period on seed setting rate and its relationship with sink to source ratios and flowering habit of mid-season hybrid rice[J]. Acta Agronomica Sinica, 2015, 41(6): 946–955

[8] 盛婧, 陈留根, 朱普平, 等. 不同水稻品种抽穗期对高温的响应及避热的调控措施[J]. 江苏农业学报, 2006, 22(4): 325–330
Sheng J, Chen L G, Zhu P P, et al. Responses of rice varieties to high temperature at heading stage and methods for heat escape[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2006, 22(4): 325–330

[9] 石春林, 金之庆, 汤日圣, 等. 水稻颖花结实率对减数分裂期和开花期高温的响应差异[J]. 江苏农业学报, 2010, 26(6): 1139–1142
Shi C L, Jin Z Q, Tang R S, et al. Response difference of seed setting rate of rice florets at the meiosis and anthesis stages to high temperature[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2006, 26(6): 1139–1142

[10] 黄英金, 罗永锋, 黄兴作, 等. 水稻灌浆期耐热性的品种间差异及其与剑叶光合特性和内源多胺的关系[J]. 中国水稻科学, 1999, 13(4): 205–210
Huang Y J, Luo Y F, Huang X Z, et al. Varietal difference of heat tolerance at grain filling stage and its relationship to photosynthetic characteristics and endogenous polyamine of flag leaf in rice[J]. Chinese Journal of Rice Science, 1999, 13(4): 205–210

[11] 朱雪梅, 柯永培, 邵继荣, 等. 高温胁迫对重穗型水稻品种叶片活性氧代谢的影响[J]. 种子, 2005, 24(3): 25–27
Zhu X M, Ke Y P, Shao J R, et al. Effects of high temperature stress on activated oxygen metabolism of the leaves of the heavy panicle type of medium India hybrid rice[J]. Seed, 2005, 24(3): 25–27

[12] 曹云英, 段骅, 杨立年, 等. 抽穗和灌浆早期高温对耐热性不同籼稻品种产量的影响及其生理原因[J]. 作物学报, 2009, 35(3): 512–521
Cao Y Y, Duan H, Yang L N, et al. Effect of high temperature during heading and early grain filling on grain yield of indica rice cultivars differing in heat-tolerance and its

physiological mechanism[J]. Acta Agronomica Sinica, 2009, 35(3): 512–521

[13] 张桂莲, 陈立云, 张顺堂, 等. 抽穗开花期高温对水稻剑叶理化特性的影响[J]. 中国农业科学, 2007, 40(7): 1345–1352
Zhang G L, Chen L Y, Zhang S T, et al. Effects of high temperature on the physiological and biochemical characteristics in flag leaves of rice at heading and flowering period[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2007, 40(7): 1345–1352

[14] 雷东阳, 陈立云, 李稳香, 等. 高温对不同杂交稻开花期影响的生理差异[J]. 农业现代化研究, 2005, 26(5): 397–400
Lei D Y, Chen L Y, Li W X, et al. Effect of high temperature on physiology difference of flowering among different hybrid rice[J]. Research of Agricultural Modernization, 2005, 26(5): 397–400

[15] 汤日圣, 郑建初, 张大栋, 等. 高温对不同水稻品种花粉活力及籽粒结实的影响[J]. 江苏农业学报, 2006, 22(4): 369–373
Tang R S, Zheng J C, Zhang D D, et al. Effects of high temperatures on pollen vitality and seed setting of different rice varieties[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2006, 22(4): 369–373

[16] 郭晶心, 曾文智, 周宝津, 等. 开花期高温胁迫对不同水稻品种花粉萌发和结实的影响[J]. 华南农业大学学报, 2010, 31(2): 50–53
Guo J X, Zeng W Z, Zhou B J, et al. Effect of high temperature on pollen germination and seed setting of rice during heading period[J]. Journal of South China Agricultural University, 2010, 31(2): 50–53

[17] 李天, 刘奇华, 大杉立, 等. 灌浆结实期高温对水稻籽粒蔗糖及降解酶活性的影响[J]. 中国水稻科学, 2006, 20(6): 626–630
Li T, Liu Q H, Ohsugi R, et al. Effect of high temperature on sucrose content and sucrose-cleaving enzymes activity in rice during grain filling stage[J]. Chinese Journal of Rice Science, 2006, 20(6): 626–630

[18] 李卫国, 戴廷波, 朱艳, 等. 基于生态效应的水稻籽粒蛋白质含量预测模型研究[J]. 植物生态学报, 2005, 29(4): 630–635
Li W G, Dai T B, Zhu Y, et al. An ecological model for predicting protein content in rice grains[J]. Acta Phytoecologica Sinica, 2005, 29(4): 630–635

[19] Satake T, Yoshida S. High temperature-induced sterility in indica rices at flowering[J]. Japan Journal of Crop Science, 1978, 47(1): 6–17

[20] 朱兴明, 曾庆曦, 宁清利. 自然高温对杂交稻开花受精的影响[J]. 中国农业科学, 1983, 16(2): 37–44
Zhu X M, Zeng Q X, Ning Q L. Effect of natural high temperature on flowering and fertilization in hybrid rice[J]. Scientia Agricultura Sinica, 1983, 16(2): 37–44

[21] 段骅, 唐琪, 剧成欣, 等. 抽穗灌浆早期高温与干旱对不同水稻品种产量和品质的影响[J]. 中国农业科学, 2012, 45(22): 4561–4573
Duan H, Tang Q, Ju C X, et al. Effect of high temperature and drought on grain yield and quality of different rice varieties during heading and early grain filling periods[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2012, 45(22): 4561–4573

[22] Yoshida S, Satake T, Mackill D S. High-temperature stress in rice[J]. IRRI Research Paper Series, 1981, (67): 15